

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 03-085435

(43)Date of publication of application : 10.04.1991

(51)Int.Cl.

G01N 27/38

G01N 27/327

G01N 27/416

(21)Application number : 01-223613

(71)Applicant : DAIKIN IND LTD

(22)Date of filing : 30.08.1989

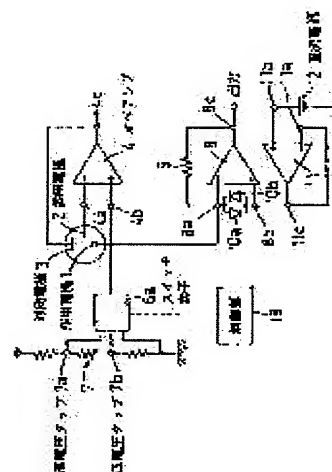
(72)Inventor : INAMOTO TOMOYUKI

(54) METHOD AND APPARATUS FOR REFRESHING ELECTRODE OF BIOSENSOR

(57)Abstract:

PURPOSE: To shorten a time for measurement in a prescribed precision by a method wherein a forward bias higher than a forward bias at the time of measurement is supplied to a working electrode for a prescribed time after a prescribed backward bias is supplied thereto for a prescribed time.

CONSTITUTION: When the concentration of glucose is measured, a switching element 6a is operated to connect a non-inverting input terminal 4b of an operational amplifier 4 with a high-voltage tap 7a of a resistance voltage-division circuit 7, and a constant voltage for refresh is impressed between a working electrode 1 and a reference electrode 2. Next, by controlling the element 6a, the terminal 4b of the amplifier 4 is connected with a low-voltage tap 7b of the circuit 7 and a voltage higher than a voltage for measurement is impressed between the electrodes 1 and 2. By controlling the element 6a further, thereafter, the terminal 4b is connected with the ground and a prescribed voltage is impressed as a forward bias on the electrode 1 with the electrode 2 used as a reference. Then hydrogen or the like is consumed in a short time and measurement of concentration is enabled. Accordingly, a liquid to be measured may be dropped down onto an enzyme electrode in this state.



⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 平3-85435

⑬ Int. Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成3年(1991)4月10日

G 01 N 27/38
27/327
27/416

7235-2G

7235-2G
6923-2G

G 01 N 27/30
27/46

3 5 3 Z
3 0 1 Z

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全6頁)

⑮ 発明の名称 バイオセンサの電極リフレッシュ方法およびその装置

⑯ 特 願 平1-223613

⑰ 出 願 平1(1989)8月30日

⑱ 発 明 者 稲 本 朋 之 滋賀県草津市岡本町字大谷1000番地の2 ダイキン工業株式会社滋賀製作所内

⑲ 出 願 人 ダイキン工業株式会社 大阪府大阪市北区中崎西2丁目4番12号 梅田センタービル

⑳ 代 理 人 弁理士 津川 友士

明 細 書

1. 発明の名称

バイオセンサの電極リフレッシュ方法
およびその装置

2. 特許請求の範囲

1. 生理活性物質が固定された作用電極(1)に所定の順バイアスを供給した状態で、作用電極(1)と対向電極(3)との間に生成される電気的信号に基いて対象物質の濃度測定を行なうバイオセンサにおいて、作用電極(1)に所定の逆バイアスを所定時間供給した後、測定時の順バイアスよりも高い順バイアスを所定時間供給することを特徴とするバイオセンサの電極リフレッシュ方法。

2. 生理活性物質が固定された作用電極(1)に所定の順バイアスを供給した状態で、作用電極(2)と対向電極(3)との間に生成される電気的信号に基いて対象物質の濃度測定を行なうバイオセンサにおいて、作

用電極(1)にリフレッシュ用の電圧を供給するリフレッシュ用電圧供給手段(6a)(7a)と、測定用の電圧を供給する測定用電圧供給手段(12)と、測定用の電圧よりも高い電圧を供給する高電圧供給手段(6b)(7b)と、測定動作遂行時に、上記リフレッシュ用電圧供給手段(6a)(7a)によるリフレッシュ用の電圧供給状態と上記高電圧供給手段(6b)(7b)による電圧供給状態と上記測定用電圧供給手段(12)による測定用の電圧供給状態とをこの順に選択する選択手段(18)とを具備することを特徴とするバイオセンサの電極リフレッシュ装置。

3. 発明の詳細な説明

<産業上の利用分野>

この発明はバイオセンサの電極リフレッシュ方法およびその装置に関し、さらに詳細に言えば、測定開始前に電極に対して測定時と異なる極性のバイアスを与えるための電極リフレッシュ装置に

関する。

＜従来の技術、および発明が解決しようとする問題点＞

従来から、非常に複雑な有機化合物等を高感度、かつ高選択的に検知することができるという特質に着目して、種々のバイオセンサの研究が行なわれている。

このようなバイオセンサの代表的なものとして、電極に生理活性物質を固定しておき、所定の順バイアスを与えた状態で電極から取出される電気信号に基いて測定対象物質の存在の有無、存在量等を検知するもの、例えば、Ptで作用電極、および対向電極を形成し、酵素膜に固定された酵素と対象物質との反応により生成される H_2O_2 を H_2O_2 透過膜を通して電極表面に導き、透過した H_2O_2 の量に対応する電気信号を取出して測定対象物質の存在の有無、存在量等を検知するものが提案されている。具体的には、対向電極を基準として作用電極に0.6Vの順バイアス電圧を印加している。

の表面の酸化膜が還元されることに伴って水素、水素イオン等が発生することとなり、測定用の定電圧を印加した場合にこれら水素、水素イオン等に起因する拡散電流が流れる。

この結果、取出される電気信号が拡散電流の影響を受けて小さくなってしまい、測定用の定電圧印加直後における測定精度が大幅に低下してしまう。また、拡散電流が十分に小さくなってから測定を行なうようにすれば十分な測定精度を得ることができるのであるが、著しく長い待ち時間（例えば、1～2分）が必要になってしまう。

また、作用電極、および対向電極の他に参照電極を設けたバイオセンサにおいても同様の不都合がある。

＜発明の目的＞

この発明は上記の問題点に鑑みてなされたものであり、電極リフレッシュ動作を行なってから測定動作を開始できるまでの所要時間を短縮することができるバイオセンサの電極リフレッシュ方法およびその装置を提供することを目的としている。

また、このようなバイオセンサにおいては、電極に順バイアスを与えた状態での対象物質測定動作を継続することにより、作用電極表面に酸化膜等の通電妨害膜が形成され、作用電極の活性が低下するので、ある程度の回数の測定動作を行なった後、測定動作を行なわない期間に逆バイアスを与えることにより（上記の具体例に対応させれば、対向電極を基準として、作用電極に-0.6V程度の逆バイアス電圧を印加することにより）通電妨害膜を除去し、作用電極の活性を復元させ、取出される電気信号のレベルを再び元のレベルにまで復元させることが提案されている（特開昭60-155959号公報参照）。

そして、このように非測定時に所定の逆バイアスを与えることにより、低下した測定感度を回復させ、再び高感度の測定動作を行なうことができる。

しかし、上記の電極リフレッシュ装置においては、作用電極と対向電極との間にリフレッシュ用の定電圧を印加しているのであるから、作用電極

＜問題点を解決するための手段＞

上記の目的を達成するための、この発明の電極リフレッシュ方法は、作用電極に所定の逆バイアスを所定時間供給した後、測定時の順バイアスよりも高い順バイアスを所定時間供給する方法である。

上記の目的を達成するための、この発明の電極リフレッシュ装置は、作用電極にリフレッシュ用の電圧を供給するリフレッシュ用電圧供給手段と、測定用の電圧を供給する測定用電圧供給手段と、測定用の電圧より高い電圧を供給する高電圧供給手段と、測定動作遂行時に、上記リフレッシュ用電圧供給手段によるリフレッシュ用の電圧供給状態と上記高電圧供給手段による電圧供給状態と上記測定用電圧供給手段による測定用の電圧供給状態とをこの順に選択する選択手段とを具備している。

＜作用＞

以上の電極リフレッシュ方法であれば、逆バイアスを供給することにより作用電極表面の通電妨

害物質を還元して活性を高めることができ、次いで測定時の順バイアスよりも高い順バイアスを供給することにより、通電妨害物質の還元に伴って発生した物質を高速に一方の電極に向かって移動させることができる。したがって、測定時の順バイアスを供給した状態において上記物質を速やかに消費させることができ、所定の精度を維持した測定を開始できるまでの所要時間を著しく短縮できる。

以上の構成の電極リフレッシュ装置であれば、実際に測定動作を開始する前に、選択手段により、リフレッシュ用電圧供給手段によるリフレッシュ用の電圧供給状態および高電圧供給手段による電圧供給状態とをこの順に選択するので、先ず、作用電極表面における通電妨害物質の除去を行なう。そして、通電妨害物質が除去された後は、測定用の電圧よりも高い電圧を供給して、通電妨害物質の除去に伴って発生する物質を高速に一方の電極に向かって移動させる。その後は測定用の電圧を供給した場合に、上記物質が速かに消費され、

するようにしているので、通電妨害物質の除去に伴って発生した物質を高速に一方の電極に向かって移動させることができる。したがって、測定用の電圧を供給した時点において上記物質は十分に一方の電極に接近しているのであるから、測定用の電圧を供給した場合に上記物質が速かに消費され、高精度の対象物質の濃度測定を開始できるまでの時間を大幅に短縮できる。

第4図は上記動作を説明する図であり、同図(A1)～(A3)は従来の場合に、同図(B1)～(B3)はこの発明の場合にそれぞれ対応している。

即ち、同図(A1)(B1)に示すように、通電妨害物質が除去された時点においては同じ量の生成物質が作用電極と参照電極との間に存在している。そして、従来の場合には、同図(A2)に示すように作用電極に向かう比較的小さい移動力が生成物質に作用するだけであるから、所定量の生成物質が消費されるまでの所要時間が長くなる。即ち、同図(A3)に示すように、所定時間が経

短時間で所定の精度での対象物質の濃度測定を開始できる。

さらに詳細に説明すると、上記リフレッシュ動作は、作用電極の表面に形成された通電妨害物質を除去する動作であり、通電妨害物質は酸化により生成されているのであるから還元動作を行なわせることにより簡単に通電妨害物質を除去できる。この場合において、通電妨害物質の除去に伴って必然的に水素、水素イオン等が発生し、測定用の電圧を供給した場合にこれらの発生物質が拡散するので、拡散電流が十分に小さくなった後でなければ高精度の対象物質の濃度測定を行なうことができない。具体的には、例えば測定用の順バイアスを0.75Vに設定し、逆バイアスを-1V、4秒間に設定した場合に1～2分待たなければ拡散電流が十分に小さくならない。したがって、測定を開始できるまでに長い待ち時間が必要であるという不都合がある。

しかし、この発明においては、測定用の電圧を供給する前に測定用の電圧よりも高い電圧を供給

過した時点において生成物質は余り作用電極に接近しておらず、これらの大半が作用電極に到達して消費されるまでに長時間がかかることになる。これに対してこの発明の場合には、同図(B2)に示すように先ず、作用電極に向かう比較的大きい移動力が生成物質に作用するので、上記時間と等しい時間が経過した時点において生成物質が作用電極にかなり接近することになる(同図(B3)参照)。その後は、従来の場合と同じ移動力が作用するのであるが、生成物質が既に作用電極に接近しているのであるから、所定量の生成物質が消費されるまでの所要時間が短くなる。

この結果、実際の測定動作を開始できるまでの所要時間を大巾に短縮することができる。尚、第4図は3電極式のバイオセンサの場合を示しているが、参照電極を有していない2電極式のバイオセンサであっても同様である。

<実施例>

以下、実施例を示す添付図面によって詳細に説明する。

第1図はこの発明の電極リフレッシュ装置の一実施例を示す電気回路図であり、Ptからなる作用電極(1)と、Agからなる参照電極(2)および対向電極(3)を有する、いわゆる3電極式の酵素電極に対するリフレッシュを行なわせるようにしてある。

上記参照電極(2)、および対向電極(3)は、それぞれオペアンプ(4)の反転入力端子(4a)および出力端子(4c)に接続されており、上記オペアンプ(4)の非反転入力端子(4b)がスイッチ素子(6a)を介して抵抗分圧回路(7)の高電圧タップ(7a)、低電圧タップ(7b)およびアースと選択的に接続されている。また、測定信号取出し用の電流-電圧変換用オペアンプ(8)の反転入力端子(8a)を上記作用電極(1)と接続しており、出力端子(8c)と反転入力端子(8a)との間に電流-電圧変換用抵抗(9)を接続しているとともに、反転入力端子(8a)と非反転入力端子(8b)との間に、ダイオード(10a)(10b)を互に逆極性で並列接続している。そして、非反転入力端子(11b)に測定用の直流電源(12)を接続し、出力端子(11c)と反転入力端子(11a)とを直接接続したバッファ

アンプ(11)の出力端子(11c)を上記電流-電圧変換用オペアンプ(8)の非反転入力端子と接続している。尚、上記直流電源(12)は0.75Vの順バイアスを与えるものであり、上記高電圧タップ(7a)および低電圧タップ(7b)は、それぞれ-1V、1Vのバイアスを与えるものであり、(18)はスイッチ素子(6a)の動作を制御する選択手段としての制御部である。

第2図は上記電極リフレッシュ装置が適用される酵素電極の一例を示す縦断面図であり、電極本体(13)の所定位置に作用電極(1)を設けているとともに、作用電極(1)の全外周を包囲するリング状の参照電極(2)、および対向電極(3)をこの順に設けている。そして、上記作用電極(1)、参照電極(2)、および対向電極(3)を設けている側の面を凸面にしているとともに、凸面に沿うように、過酸化水素選択透過膜(14)、グルコースオキシダーゼ(以下、GODと略称する)を固定した固定化GOD膜(15)、およびポリビニルアセテート等からなる拡散制限膜(16)をこの順に設けている。尚、(17)は

上記作用電極(1)、参照電極(2)、および対向電極(3)とそれぞれ接続された信号取出し端子である。

上記の構成のグルコース濃度センサの動作は次のとおりである。

グルコース濃度の測定を行なう場合には、先ず、スイッチ素子(6a)を動作させることによりオペアンプ(4)の非反転入力端子(4b)と抵抗分圧回路(7)の高電圧タップ(7a)とを接続し、作用電極(1)と参照電極(2)との間にリフレッシュ用の定電圧(例えば、-1V)を印加する(第3図(A)(B)中領域R1参照)。

この状態においては、作用電極(1)の表面に形成された通電妨害物質を還元すべく電流が流れるので、比較的短い所定時間だけリフレッシュ用の定電圧印加状態を継続することにより、通電妨害物質を完全に除去し、作用電極(1)の活性を復元させることができる。そして、この状態においては作用電極(1)と参照電極(2)との間に水素、水素イオン等が存在することになる。

次いで、スイッチング素子(6a)を制御すること

により、オペアンプ(4)の非反転入力端子(4b)と抵抗分圧回路(7)の低電圧タップ(7b)とを接続し、作用電極(1)と参照電極(2)との間に測定用の電圧よりも高い電圧(例えば、1V)を印加する(第3図(A)(B)中領域R2参照)。

この状態においては、浮遊している水素、水素イオン等を作用電極(1)に向かって移動させるべく大きな移動力が作用するので、比較的短い時間だけ高い電圧を印加するだけで水素、水素イオン等の殆どを作用電極(1)に接近させることができる。

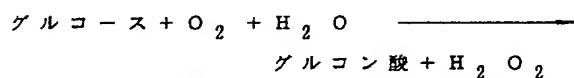
その後、スイッチング素子(6a)をさらに制御することによりオペアンプ(4)の非反転入力端子(4b)とアースとを接続し、作用電極(1)に対して、参照電極(2)を基準として所定の電圧(例えば、0.75V)を順バイアスとして印加すれば、短時間で水素、水素イオン等を消費し、濃度測定可能な状態とすることができる。具体的には、従来1~2分程度の時間がかかっていたのに対してこの実施例においては30~45秒程度に短縮できた。

したがって、この状態において測定対象溶液を

酵素電極に滴下すればよく、以下のようにしてグルコース濃度に対応する信号を出力することができる。

上記滴下された測定対象溶液は、拡散制限膜(18)によりグルコースの透過がある程度制限された状態で固定化GOD膜(15)に導かれ、

G O D



で示される酵素反応が行なわれる結果、存在するグルコース濃度に対応する量の H_2O_2 が生成される。そして、生成された H_2O_2 が、過酸化水素選択透過膜(14)を通して十分な活性を有する状態に還元させられた作用電極(1)の表面に導かれ、しかも上記順バイアス電圧が印加されているので、作用電極(1)の表面において酸化反応が行なわれると同時に作用電極(1)を通して H_2O_2 の量に対応する電流が流入する。この電流は、電流-電圧変換用オペアンプ(8)の反転入力端子(8a)に供給されるのであるから、出力端子(8c)から、上記電流に

即ち、過大な電流が流れることを確実に防止できる。また、過大な電流が流れることを防止できる関係上、電極表面の薄膜が受けるダメージを大幅に低減し、従来は1カ月程度であった薄膜の寿命を1年程度にまで延ばすことができた。

尚、この発明は上記の実施例に限定されるものではなく、例えばリフレッシュ用の電圧、高い電圧の値を代えること、および電圧値に対応して印加時間を変化させることが可能であるほか、グルコース以外の物質の濃度を測定する装置に適用することが可能であり、さらに2電極式のバイオセンサに適用することが可能であるほか、この発明の要旨を変更しない範囲内において種々の設計変更を施すことが可能である。

<発明の効果>

以上のように第1の発明は、バイオセンサの作用電極に一定の逆バイアスを供給することにより作用電極のリフレッシュを行なわせ、その後、作用電極に測定用の順バイアスを供給する前に測定用の順バイアスよりも高い順バイアスを供給する

比例した電圧信号に順バイアスによるオフセット電圧が重畳された電圧信号を取出すことができる。

したがって、その後は、上記電流に比例する電圧信号のみを抽出し、一次微分を施して、一次微分値のピーク値を検出し、必要な処理を行なうことにより高精度のグルコース濃度検出信号を得ることができる。

<実施例2>

第5図は他の実施例を示すブロック図であり、上記実施例と異なる点は、オペアンプ(4)の非反転入力端子(4b)をコンデンサ(5)を介してアースと接続した点、および非反転入力端子(4b)を抵抗(5a)およびスイッチ素子(8a)を介して抵抗分圧回路(7)の高電圧タップ(7a)、低電圧タップ(7b)と接続した点のみである。

したがって、この実施例の場合には、抵抗(5a)およびコンデンサ(5)に基づいて定まる時定数でバイアスが增加し(第6図(A)参照)、この結果、第6図(B)に示すように、通電電流のアンダーシュート、オーバーシュートを大幅に抑制できる。

のであるから、リフレッシュに伴って発生した物質を速かに消費させることができ、所定の精度での測定を行ない得るまでの所要時間を大幅に短縮できるという特有の効果を奏する。

第2の発明も、所定の精度での測定を行ない得るまでの所要時間を大幅に短縮できるという特有の効果を奏する。

4. 図面の簡単な説明

第1図はこの発明の電極リフレッシュ装置の一実施例を示す電気回路図、

第2図は電極の一例を示す概略図、

第3図は電極リフレッシュ時におけるバイアスの変化および電流の変化を示す図

第4図はリフレッシュに伴って発生する物質の挙動を説明する図、

第5図は電極リフレッシュ装置の他の実施例を示す電気回路図、

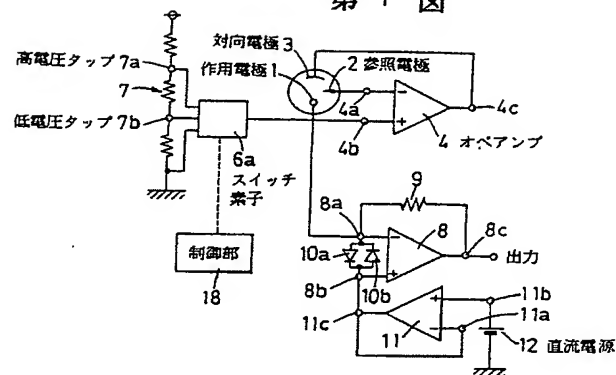
第6図は電極リフレッシュ時におけるバイアスの変化および電流の変化を示す図。

- (1) … 作用電極、(2) … 参照電極、
 (3) … 対向電極、(4) … オペアンプ、
 (6a) … スイッチ素子、(7a) … 高電圧タップ、
 (7b) … 低電圧タップ、(12) … 直流電源、
 (18) … 制御部

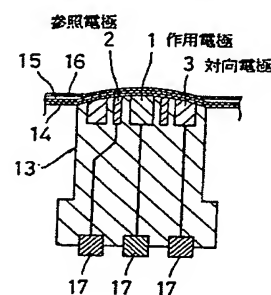
特許出願人 ダイキン工業株式会社

代理人 弁理士 津川友士

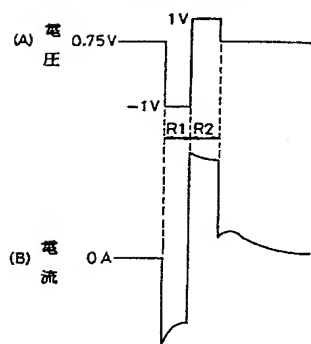
第 1 図



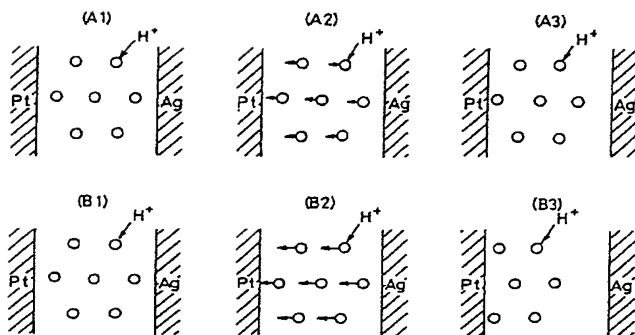
第 2 図



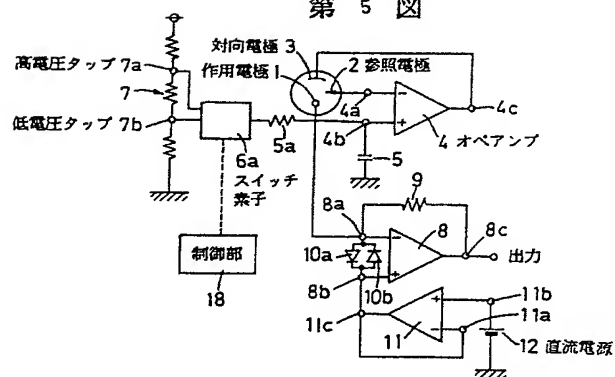
第 3 図



第 4 図



第 5 図



第 6 図

